

Dimitri Hefter
Dr. med.

Neuroprotektive Funktion des Amyloid Precursor Proteins und seines extrazellulären Fragments APPs α

Fach: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas Draguhn

Das Amyloid Precursor Protein (APP) spielt nicht nur eine Schlüsselrolle als Quelle des Amyloids β bei der Pathogenese der Alzheimer Erkrankung, sondern wird auch nach Schädel-Hirn-Trauma und hypoxisch-ischämischen Zuständen wie dem Ischämischen Schlaganfall vermehrt exprimiert und auf amyloidogenem Weg gespalten. Die Anhäufung von Amyloid β in Plaques scheint die Assoziation zwischen diesen akuten Erkrankungen und der späteren Entwicklung einer Alzheimer Demenz kausal erklären zu können. Doch neben der pathologischen Rolle als Amyloidquelle besitzt das Protein zahlreiche trophische, für Entwicklung und Plastizität des gesunden Gehirns essentielle Funktionen, die mehrheitlich durch das extrazellulär freigesetzte APPs α Fragment vermittelt werden. In den letzten Jahren verdichteten sich Hinweise auf seine neuroprotektive Rolle, doch die zugrundeliegenden Mechanismen sind weitgehend unerforscht.

Das Ziel dieser Dissertation ist die Untersuchung der neuroprotektiven Rolle von APP und APPs α als Antwort auf akuten zellulären Stress. In der Originalarbeit, die als (Hefter *et al.*, 2016) publiziert wurde, wurden zu diesem Zwecke akute hippocampale Schnitte von Wildtyp-, APP-Knockout (APP-KO) und Mäusen, die nur das lösliche extrazelluläre Fragment APPs α exprimieren (APPs α -KI), einer transienten fünfminütigen Hypoxie exponiert. Netzwerkfunktionen und synaptische Übertragung in CA3-CA1 sowie Eigenschaften der CA1 Pyramidenzellen wurden elektrophysiologisch erfasst. Die Veränderung der intrazellulären Calcium-Konzentration wurde mittels Calcium Imaging gemessen und anschließend wurden morphologische Veränderungen und Zelltod immunhistochemisch evaluiert. Die Messergebnisse bestätigten die Hypothese, dass APP protektive Effekte auf Netzwerkfunktion und synaptische Übertragung besitzt und die Regeneration dieser Funktionen nach der Hypoxie fördert. Diese Wirkung wurde zu einem großen Teil durch APPs α vermittelt. Die Veränderungen auf Netzwerkebene gingen mit alterierten intrazellulären Eigenschaften der APP-KO Neurone einher, unter anderem depolarisiertes Ruhemembranpotential, langsame Kinetik des Aktionspotentials und schnellere Veränderung des Membranpotentials in der hypoxischen Atmosphäre, was auf eine kompromittierte zelluläre Energiehomöostase hinweist. Des Weiteren gingen die elektrophysiologischen Defizite von APP-KO Gewebe mit einem erhöhten hypoxischen Calciumeinstrom einher. In pharmakologischen Versuchen mit dem L-Typ Calciumkanal (LTCC) Blocker Nifedipin wurde gezeigt, dass vermehrte Aktivierung von LTCC

(und nicht etwa die Aktivierung der NMDA Rezeptoren) diesen Defiziten in APP-KO Schnitten zu Grunde liegt. In der histologischen Auswertung zeigte sich, dass die beschriebenen Defizite funktioneller Natur sind und nicht einem überproportional hohen Anteil apoptotischer oder nekrotischer Zellen geschuldet sind.

Die Übersichtsarbeit, die als (Hefter und Draguhn, 2017) veröffentlicht wurde, fasst die Evidenz aus klinischen Studien, Tierexperimenten und *in vitro* Versuchen für neuroprotektive Funktionen von APP sowie die zugrundeliegenden Mechanismen zusammen. Es wird eine Brücke zwischen der Pathophysiologie von Schädel-Hirn-Trauma und Hypoxie-Ischämie und der Ätiologie der Alzheimer Krankheit geschlagen. Die Funktionen von APP und seinen Metaboliten als trophische Akutphase-Proteine werden ihren pathologischen Rollen gegenübergestellt. Die neu entdeckten Interaktionsmechanismen und -partner von APP und seinen Metaboliten führen zu neuen therapeutischen Angriffsmöglichkeiten. Diese potentiellen neuroprotektiven Strategien werden vorgestellt und diskutiert. Nicht zuletzt ist diese Arbeit auch ein Appell die Balance zwischen protektiven und pathologischen APP Funktionen zu beachten und sie bei der Entwicklung neuer Krankheitsmodelle zu berücksichtigen.

Zusammengefasst führt diese Arbeit zu der Schlussfolgerung, dass APP und APPs α essentielle neuroprotektive Funktionen besitzen, die im besonderen Maße durch Inhibition von L-Typ Calcium Kanälen als auch durch zahlreiche andere Mechanismen vermittelt werden. Fehlen von APP führt zur Dysregulation der Calcium-, und Energiehomöostase und zu signifikanten funktionellen Einbußen nach der Hypoxie auf zellulärer- und Netzwerkebene. Diese Ergebnisse können potentiell in klinische Therapien umgesetzt werden, wie z. B. Die Blockade von LTCC mit Nifedipin oder Verschiebung der enzymatische Spaltung von APP zugunsten von APPs α mittels β -Sekretase Inhibitoren oder α -Sekretase Agonisten.